

# 基于 HNRNPA2B1 及其调控 miRNAs 构建肺腺癌 TP53 突变人群的预后模型

彭宝相<sup>1,2</sup>, 王云<sup>1</sup>, 徐从娥<sup>2</sup>

(1 青岛大学基础医学院病原生物学系, 山东 青岛 266071; 2 临沂市肿瘤医院)

**[摘要]** 目的 基于癌症基因组图谱(TCGA)数据库多组学数据构建肺腺癌 TP53 突变人群的预后模型,探讨核内不均一核糖核蛋白 A2/B1(HNRNPA2B1)与肺腺癌 TP53 突变之间的相关性。方法 通过生物信息学方法搜集 TCGA 和基因表达数据库(GEO)中的突变数据,分析 TP53 突变对肺腺癌病人 HNRNPA2B1 表达及预后的影响;将病人随机分为训练集和验证集(7:3),筛选潜在的受 HNRNPA2B1 调控的 miRNAs 构建模型、绘制 ROC 曲线,并通过列线图可视化。结果 HNRNPA2B1 在 TP53 突变肺腺癌中显著高表达( $P<0.001$ ),且高表达病人预后不良( $P=0.031$ )。筛选出 9 个受 HNRNPA2B1 调控且与预后相关的 miRNAs 构建预后模型,结果表明列线图对预后模型具有较好的区分度和准确度( $\chi^2=9.443, P=0.306$ )。结论 HNRNPA2B1 与肺腺癌 TP53 突变存在正相关,基于 HNRNPA2B1 调控的 miRNAs 可建立预测 TP53 突变肺腺癌病人预后的良好模型。

**[关键词]** 肺腺癌;基因, p53;核不均一核糖核蛋白 A-B 组;微 RNAs;预后模型

**[中图分类号]** R734.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2096-5532(2024)02-0227-06

**doi:** 10.11712/jms.2096-5532.2024.60.055

**[开放科学(资源服务)标识码(OSID)]**



**[网络出版]** <https://link.cnki.net/urlid/37.1517.R.20240430.1426.006>;

2024-05-07 10:14:37

**A prognostic model of TP53-mutated lung adenocarcinoma based on HNRNPA2B1 and its target miRNAs** PENG Baoxiang, WANG Yun, XU Cong'e (Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

**[Abstract]** **Objective** To construct a prognostic model of TP53-mutated lung adenocarcinoma based on multi-omics data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, and to investigate the correlation between heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 (HNRNPA2B1) and TP53-mutated lung adenocarcinoma. **Methods** We employed bioinformatics methods to collect the mutation data from TCGA and the Gene Expression Omnibus to analyze the effects of TP53 mutation on the expression of HNRNPA2B1 and prognosis of patients with lung adenocarcinoma. The patients were randomly divided into training and validation sets (7:3). Potential HNRNPA2B1-regulated miRNAs were selected for modeling, generating a receiver operating characteristic (ROC) curve, and creating a nomogram for visualization. **Results** HNRNPA2B1 was significantly over expressed in TP53-mutated lung adenocarcinoma ( $P<0.001$ ), and was significantly associated with a poor prognosis ( $P=0.031$ ). Nine miRNAs regulated by HNRNPA2B1 and associated with prognosis were included in the prognostic model, and the constructed nomogram had good discrimination and accuracy for the prognostic model ( $\chi^2=9.443, P=0.306$ ). **Conclusion** HNRNPA2B1 is positively associated with TP53 mutation in lung adenocarcinoma. HNRNPA2B1-regulated miRNAs can be used to predict the prognosis of patients with TP53-mutated lung adenocarcinoma.

**[Key words]** adenocarcinoma of lung; genes, p53; heterogeneous-nuclear ribonucleoprotein group A-B; microRNAs; prognosis model

相关研究显示,核内不均一核糖核蛋白 A2/B1 (HNRNPA2B1)是 hnRNPs 家族的一员,其通过识别并结合特定的 RNA 底物,参与转录、剪接、转运和翻译而调控下游基因表达,进而影响多个细胞生理过程<sup>[1-6]</sup>。HNRNPA2B1 在多种恶性肿瘤组织和癌细胞系中高表达,与肿瘤生长、转移、血管生成和

化疗耐药有关<sup>[7-14]</sup>。有研究显示,在非小细胞肺癌(NSCLC)中,HNRNPA2B1 通过 m6A 依赖的方式调控 miR-106b-5p<sup>[15-16]</sup>。众所周知,TP53 是最常见的抑癌基因,其突变可见于 35%~60%的肺腺癌中<sup>[17-19]</sup>,且携带 TP53 突变的肺癌病人预后差<sup>[20]</sup>; HNRNPA2B1 可能通过促进 miRNA 成熟而影响肺腺癌病人预后<sup>[21]</sup>。但二者是否有相关性尚无报道。本研究通过数据库探究潜在受 HNRNPA2B1 调控的预后相关 miRNAs,并构建 TP53 突变肺腺癌预后模型,探讨 HNRNPA2B1-miRNAs 在 TP53

**[收稿日期]** 2023-07-23; **[修订日期]** 2024-02-17

**[基金项目]** 山东省医药卫生科技发展计划项目(2017WS834)

**[第一作者]** 彭宝相(1983-),男,硕士研究生,副主任技师。E-mail: pengbaoxiang@126.com。

**[通信作者]** 徐从娥(1984-),女,硕士,主治医师。

突变肺腺癌病人预后中的作用及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 公共数据获取

通过癌症基因组图谱(TCGA)和基因表达数据库(GEO)官网下载 59 例正常对照样本和 526 例肺腺癌样本的基因突变、mRNA 和 miRNAs 表达数据,并下载与之对应的病人临床信息用来进行预后分析。根据肺腺癌常见突变基因 *TP53* 将肺腺癌病人分为 *TP53* 突变组(*TP53*-mut 组)和 *TP53* 野生型组(*TP53*-wt 组);并将病人随机分为训练集和验证集,比例为 7:3。

### 1.2 基因集富集分析(GSEA)

GSEA 可以通过将预定义的基因集与特定表型进行比对从而找出与预定义基因集相关的表型。根据 HNRNPA2B1 表达量的高低进行分组,对本研究基因在肺腺癌中可能的作用机制进行探索。

### 1.3 变量筛选

Spearman 相关性分析以相关系数  $\rho > 0$  且  $P < 0.05$  为筛选条件,选出与 HNRNPA2B1 表达呈正相关的 miRNAs。应用 Kaplan-Meier 预后分析选出在 *TP53* 突变肺腺癌病人中表达越高预后越差的 miRNAs,将同时符合以上两个条件的 miRNAs 进一步筛选,最后纳入预后模型构建。

### 1.4 模型构建和评估

利用 HNRNPA2B1 及其调控 miRNAs 进行预后模型构建,通过风险得分中位值将样本分为高风险、低风险两组,采用 Cox 回归评价包括模型风险评分在内的各个临床病理特征对预后的影响;应用 R 软件绘制生存曲线、构建可视化列线图。应用受试者工作特征(ROC)曲线评估模型预测性能,通过曲线下面积(AUC)评估模型区分度,通过校准曲线和 Hosmer-Lemeshow 拟合优度检验来评价预测模型的校准度。所有数据的统计分析使用 R4.0.2 完成, $P$  值多重检验校正采用 Benjamini & Hochberg (BH)方法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 HNRNPA2B1 在 *TP53* 突变肺腺癌中表达的生物信息学分析

Kaplan-Meier 分析显示,*TP53* 突变影响肺腺癌病人的预后( $P = 0.033$ ,图 1A),即与非 *TP53* 突变肺腺癌病人相比,*TP53* 突变肺腺癌病人总生存

期显著缩短;HNRNPA2B1 在 *TP53* 突变肺腺癌病人中显著高表达(图 1B)。其次,HNRNPA2B1 表达水平与肺腺癌预后相关( $P = 0.031$ )(图 1C),即与低表达 HNRNPA2B1 的肺腺癌病人比较,肺腺癌病人 HNRNPA2B1 表达升高导致其总生存期显著缩短。根据 HNRNPA2B1 表达分为高表达、低表达两组进行 GSEA 分析,结果显示 HNRNPA2B1 表达升高会导致多个通路中某些产物上调,包括气味结合、嗅觉受体活性、调节血管平滑肌细胞增殖、感觉感知(图 1D)。应用 Spearman 相关性分析,共筛选出 522 个与 HNRNPA2B1 表达呈正相关的 miRNAs;应用 Kaplan-Meier 预后分析,筛选出 35 个在 *TP53* 突变肺腺癌病人中表达越高预后越差的 miRNAs,同时符合以上两个条件 miRNAs 共 12 个(图 1E)。

### 2.2 *TP53* 突变肺腺癌中受 HNRNPA2B1 调控的 miRNAs

对正常人、*TP53*-wt 组和 *TP53*-mut 组中 12 个 HNRNPA2B1 潜在调控 miRNAs 的表达分析显示,相较于正常人及 *TP53*-wt 组,*TP53*-mut 组有 9 个 miRNAs (hsa-miR-96、hsa-miR-137、hsa-miR-5001、hsa-miR-940、hsa-miR-616、hsa-miR-3909、hsa-miR-31、hsa-miR-301a、hsa-miR-556)表达水平增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 2。

### 2.3 *TP53* 突变肺腺癌 HNRNPA2B1-miRNAs 预后模型建立与评估

基于以上 9 个 miRNAs 绘制列线图模型,见图 3A。对模型分析显示,has-miR-940、has-miR-616 和 HNRNPA2B1 表达评分显示为  $97.5 + 100.0 + 57.5 = 255.0$  分,与之对应的病人 3 年生存概率约为 76%。训练集和验证集的 1、2、3、4 年预后预测 ROC 曲线 AUC 分别为 0.836、0.732、0.716、0.762(图 3B)和 0.808、0.829、0.755、0.790(图 3C),说明该模型区分度较好。模型校准曲线见图 3D,Hosmer-Lemeshow 检验显示, $\chi^2 = 9.443$ , $P = 0.306$ ,说明该模型有较好校准度。该列线图模型对肺腺癌 *TP53* 突变病人的预后具有较好的预测能力。

## 3 讨 论

在 NSCLC 中,HNRNPA2B1 可通过与多种蛋白质相互作用参与致癌过程<sup>[16]</sup>。然而,目前人们对其与 *TP53* 的相互作用是否会影响 NSCLC 病人的预后,尚知之甚少。猜测 *TP53* 突变可能影响了某

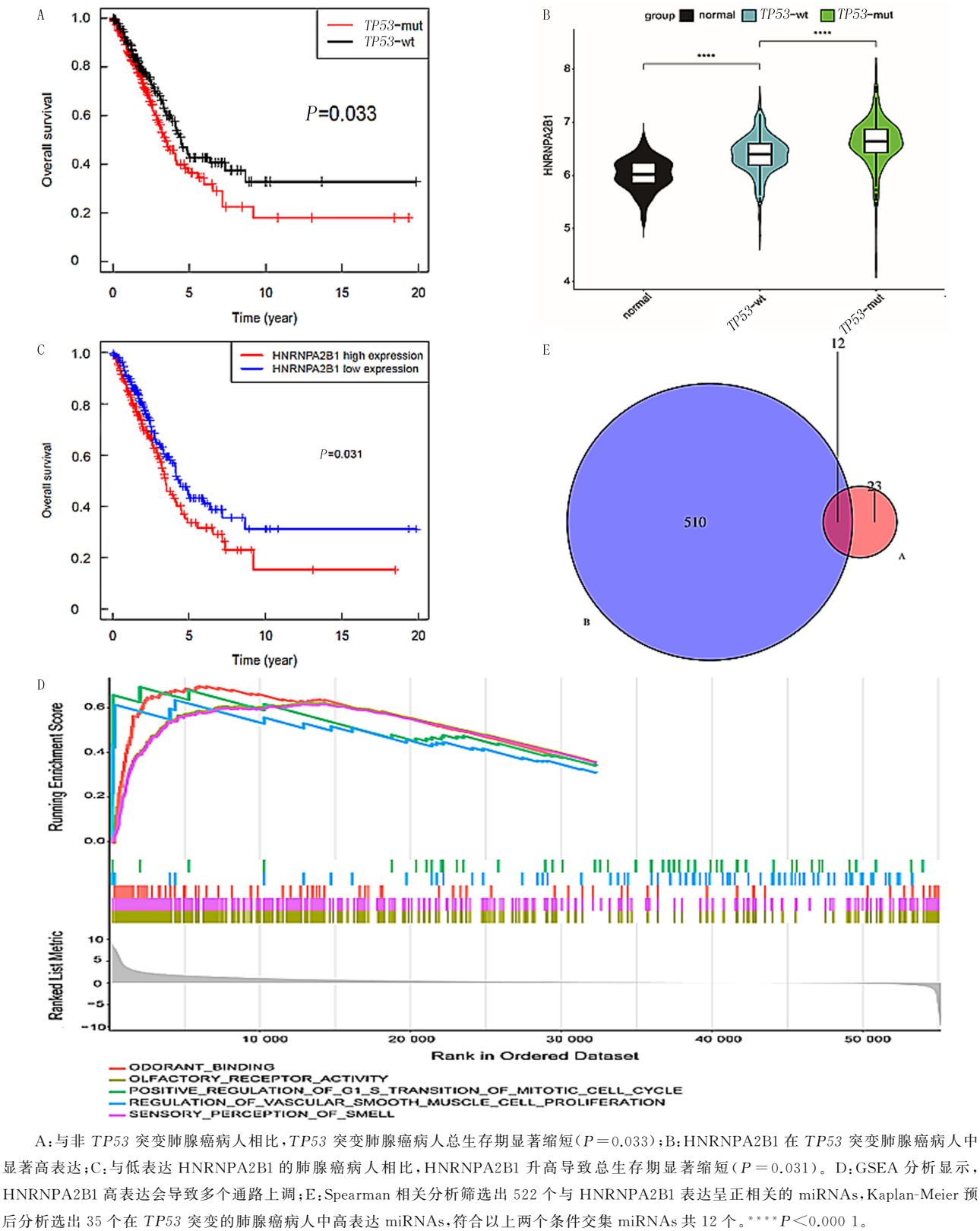
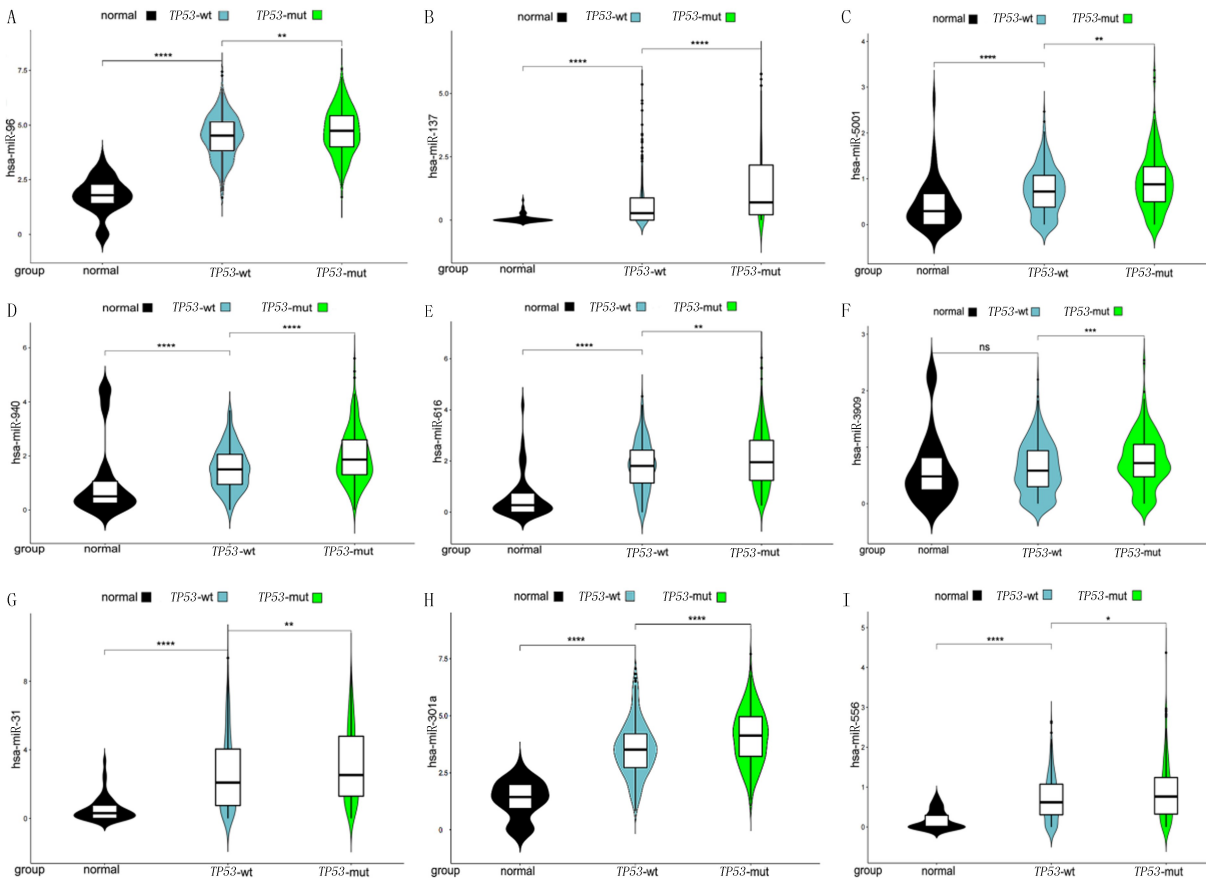


图 1 HNRNPA2B1 在 TP53 突变肺腺癌中表达的生物信息学分析

些潜在受到 *HNRNPA2B1* 调控的 miRNAs 的表达水平,进而影响肺腺癌病人的预后。多篇文献报道 *HNRNPA2B1* 通过调控 miRNA 影响肿瘤发生发展<sup>[22]</sup>。本文研究通过生物信息学分析筛选出可能潜在受 *HNRNPA2B1* 调控的 9 个 miRNAs,分别为 miR-96、miR-137、miR-5001、miR-940、miR-616、



A~I: hsa-miR-96, hsa-miR-137, hsa-miR-5001, hsa-miR-940, hsa-miR-616, hsa-miR-3909, hsa-miR-31, hsa-miR-301a, hsa-miR-556 分别在正常组(normal)、TP53-wt组、TP53-mut组中的表达情况。\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ , \*\*\*\*  $P<0.0001$ 。

图 2 TP53 突变的肺腺癌中受 HNRNPA2B1 调控的 miRNAs

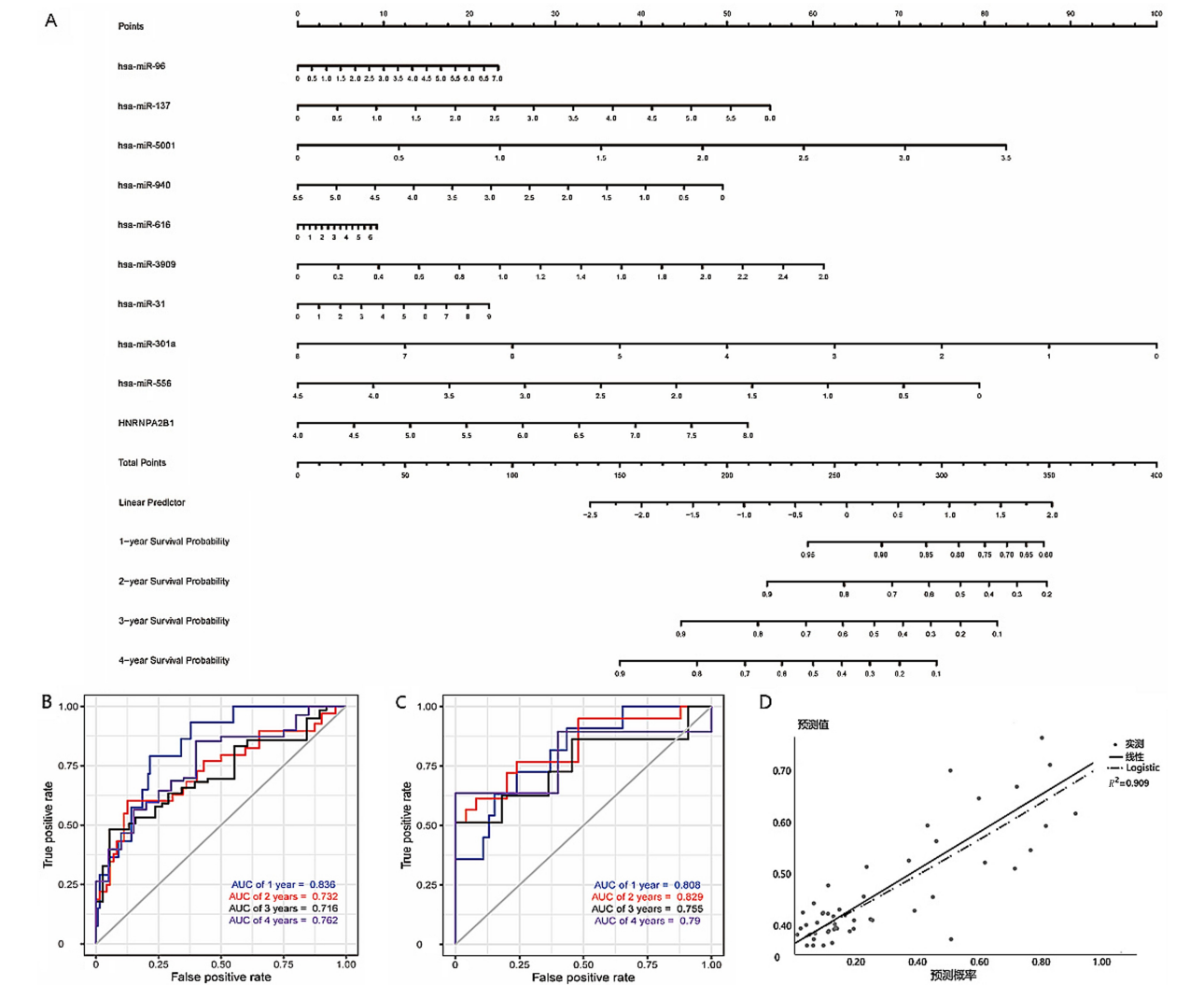
miR-3909、miR-31、miR-301a 和 miR-556；它们与 HNRNPA2B1 在肺腺癌病人中的表达趋势一致，说明以上 miRNAs 的表达很可能受到 HNRNPA2B1 调控，随即构建预后模型并用列线图可视化，通过区分度和校准度评估模型准确性。

有研究结果显示，miR-96 在 NSCLC 细胞中可靶向并下调 SAMD9 的表达，从而减少因顺铂诱导的细胞凋亡<sup>[23]</sup>。LUO 等<sup>[24]</sup>研究发现，miR-137 可通过靶向 COX-2 调节上皮间质转化(EMT)相关蛋白来抑制 NSCLC 细胞迁移侵袭。既往研究结果显示，CCMA1nc 可通过调节 miR-5001-5p 与其靶向 mRNA 之间的相互作用来促进结直肠癌的发生发展<sup>[25]</sup>。miR-940 可以通过靶向 NSCLC 中 Snail 3'-UTR 的 mRNA 来抑制 TGF- $\beta$  诱导的 EMT 和细胞侵袭<sup>[26]</sup>。WANG 等<sup>[27]</sup>研究显示，高表达 miR-616 的 NSCLC 病人的总生存期和无病生存期显著缩短，且证实了 SOX7 是 miR-616 的下游靶点。DAVENPORT 等<sup>[28]</sup>研究显示，与正常肺组织相比，miR-31 在肺腺癌、鳞状细胞癌和大细胞神经内分泌

癌中过表达，但在小细胞癌中不表达，提示 miR-31 过表达改变了不同组织学亚型中的细胞信号程序，导致肺癌的表型差异。还有研究发现，miR-301a 过表达影响了病人无病生存率，可能作为新的 NSCLC 预后指标、淋巴结转移的生物标志物以及治疗靶点<sup>[29]</sup>；miR-556-5p 下调可诱导 NLRP3 介导的细胞焦亡，有效提高 NSCLC 对顺铂的敏感性<sup>[30]</sup>。

此外，WU 等<sup>[31]</sup>的研究利用环状 RNA(circ-ABCB10)与 miR-556-3p 结合负调控 miR-556-3p 的表达，上调 AK4 进而逆转 circ-ABCB10 低表达，对肺癌顺铂化疗发挥增敏和肿瘤抑制作用。随着测序技术的发展，有研究利用高通量测序技术获得肺癌 miRNAs 的组织特异性表达谱，利用分子特征区分 NSCLC 的腺癌和鳞癌亚型，其中包括了表达上调的 hsa-miR-556-5p，进一步强调了 miRNA 信号作为 NSCLC 分层生物标志物的特殊诊断性能。提示 miRNAs 在肺癌中具有重要作用。结合本研究结果进一步提示 miRNAs 在 NSCLC 中扮演重要角色，与肿瘤的发生发展和病人预后有着极大关系。





A: 训练集 9 个 miRNAs 列线图模型评分; B: 训练集 9 个 miRNAs 列线图模型计算 1、2、3、4 年预后预测 AUC 值分别为 0.836、0.732、0.716、0.762; C: 验证集的 9 个 miRNAs 列线图模型计算 1、2、3、4 年预后预测 AUC 值分别为 0.808、0.829、0.755、0.790; D: 校准曲线。

图 3 TP53 突变肺腺癌 HNRNPA2B1-miRNAs 预后模型建立与评估

综上所述,本研究通过生物信息学分析找到受 HNRNPA2B1 调控的 9 个潜在 miRNAs,它们的表达显著影响着 TP53 突变肺腺癌病人的预后情况,可能成为新的肿瘤治疗靶点。此外,本研究构建的预后模型可帮助临床对 TP53 突变肺腺癌病人的预后判断提供有益的参考。

[参考文献]

[1] CHIUL Y, EMERY A, JAIN N, et al. Encoded conformational dynamics of the HIV splice site A3 regulatory locus: implications for differential binding of hnRNP splicing auxiliary factors[J]. Journal of Molecular Biology, 2022, 434 (18): 167728.

[2] TANG J Z, CHEN Z M, WANG Q, et al. hnRNP2B1 promotes colon cancer progression via the MAPK pathway[J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 666451.

[3] GEUENS T, BOUHY D, TIMMERMAN V. The hnRNP family: insights into their role in health and disease[J]. Human Genetics, 2016, 135(8): 851-867.

[4] ZHANG Y H, HUANG W B, YUAN Y J, et al. Long non-coding RNA H19 promotes colorectal cancer metastasis via binding to hnRNP2B1[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2020, 39(1): 141.

[5] MAKOWCZENKOK G, JASTRZEBSKI P, KIEZUN M, et al. Adaptation of the porcine pituitary transcriptome, spliceosome and editome during early pregnancy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(6): 5946.

[6] MUSLIMOVI A, TUZHILIN A, TANGT H, et al. Interactions of noncanonical motifs with hnRNP A2 promote activity-dependent RNA transport in neurons[J]. The Journal of Cell Biology, 2014, 205(4): 493-510.

[7] LIU H, LI D X, SUN L N, et al. Interaction of lncRNA MIR100HG with hnRNP2B1 facilitates m<sup>6</sup>A-dependent stabilization of TCF7L2 mRNA and colorectal cancer progression

- [J]. *Molecular Cancer*, 2022,21(1):74.
- [8] SHI X, RAN L, LIU Y, et al. Knockdown of hnRNP A2/B1 inhibits cell proliferation, invasion and cell cycle triggering apoptosis in cervical cancer via PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Oncology Reports*, 2018,39(3):939-950.
- [9] CHEN T, GUC X, XUEC L, et al. LncRNA-uc002mbe.2 interacting with hnRNPA2B1 mediates AKT deactivation and p21 up-regulation induced by trichostatin in liver cancer cells [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017,8:669.
- [10] PETRIB J, PIELLK M, SOUTH WHITTG C, et al. HNRNPA2B1 regulates tamoxifen- and fulvestrant-sensitivity and hallmarks of endocrine resistance in breast cancer cells [J]. *Cancer Letters*, 2021,518:152-168.
- [11] HU Y, SUNZ H, DENGJ M, et al. Splicing factor hnRNPA2B1 contributes to tumorigenic potential of breast cancer cells through STAT3 and ERK1/2 signaling pathway [J]. *Tumour Biology*, 2017,39(3):1010428317694318.
- [12] YUP F, KANGA R, JINGL J, et al. Long non-coding RNA CACNA1G-AS1 promotes cell migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition by HNRNPA2B1 in non-small cell lung cancer [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018,22(4):993-1002.
- [13] CHENX Y, ZHANG J, ZHUJ S. The role of m<sup>6</sup>A RNA methylation in human cancer [J]. *Molecular Cancer*, 2019,18(1):103.
- [14] HUNGC Y, WANGY C, CHUANGJ Y, et al. Nm23-H1-stabilized hnRNPA2/B1 promotes internal ribosomal entry site (IRES)-mediated translation of Sp1 in the lung cancer progression [J]. *Scientific Reports*, 2017,7(1):9166.
- [15] GAOL B, ZHUX L, SHIJ X, et al. HnRNPA2B1 promotes the proliferation of breast cancer MCF-7 cells via the STAT3 pathway [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2021,122(3-4):472-484.
- [16] CHEN Z Y, CHEN X, LEI T Y, et al. Integrative analysis of NSCLC identifies LINC01234 as an oncogenic lncRNA that interacts with HNRNPA2B1 and regulates miR-106b biogenesis [J]. *Molecular Therapy*, 2020,28(6):1479-1493.
- [17] VOKESN I, CHAMBERS E, NGUYEN T, et al. Concurrent TP53 mutations facilitate resistance evolution in EGFR-mutant lung adenocarcinoma [J]. *Journal of Thoracic Oncology: Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 2022,17(6):779-792.
- [18] LE X N, MOLIFE C, LEUSCH M S, et al. TP53 co-mutation status association with clinical outcomes in patients with EGFR-mutant non-small cell lung cancer [J]. *Cancers*, 2022,14(24):6127.
- [19] LIU S R, YU J, ZHANG H, et al. TP53 co-mutations in advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer: prognosis and therapeutic strategy for cancer therapy [J]. *Frontiers in Oncology*, 2022,12:860563.
- [20] ZHAO Z C, WAN J H, GUO M M, et al. Expression and prognostic significance of m6A-related genes in TP53-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2022,36(1):e24118.
- [21] LU Y, WANG X Y, GU Q, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A/B: an emerging group of cancer biomarkers and therapeutic targets [J]. *Cell Death Discovery*, 2022,8(1):337.
- [22] JIN C H, CAO J L, CAI Y, et al. A nomogram for predicting the risk of invasive pulmonary adenocarcinoma for patients with solitary peripheral subsolid nodules [J]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2017,153(2):462-469. e1.
- [23] WU L, PU X X, WANG Q Z, et al. miR-96 induces cisplatin chemoresistance in non-small cell lung cancer cells by down-regulating SAMD9 [J]. *Oncology Letters*, 2016,11(2):945-952.
- [24] LUO Y T, HU S W, WANG F, et al. MiR-137 represses migration and cell motility by targeting COX-2 in non-small cell lung cancer [J]. *Translational Cancer Research*, 2022,11(10):3803-3813.
- [25] YAN Y Q, XUAN B Q, GAO Z Y, et al. CCMA lnc promotes the malignance of colorectal cancer by modulating the interaction between miR-5001-5p and its target mRNA [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020,8:566932.
- [26] JIANG K Q, ZHAO T, SHEN M J, et al. MiR-940 inhibits TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition and cell invasion by targeting Snail in non-small cell lung cancer [J]. *Journal of Cancer*, 2019,10(12):2735-2744.
- [27] WANG D P, CAO Q F, QU M J, et al. Retracted MicroRNA-616 promotes the growth and metastasis of non-small cell lung cancer by targeting SOX7 [J]. *Oncology Reports*, 2023,50(4):186.
- [28] DAVENPORT M L, ECHOLS J B, SILVAA D, et al. MiR-31 displays subtype specificity in lung cancer [J]. *Cancer Research*, 2021,81(8):1942-1953.
- [29] SHIY K, ZANGQ L, LIG X, et al. Increased expression of microRNA-301a in nonsmall-cell lung cancer and its clinical significance [J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2016,12(2):693-698.
- [30] SHI F, ZHANG L Q, LIU X, et al. Knock-down of microRNA miR-556-5p increases cisplatin-sensitivity in non-small cell lung cancer (NSCLC) via activating NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3)-mediated pyroptotic cell death [J]. *Bioengineered*, 2021,12(1):6332-6342.
- [31] WU Z H, GONG Q, YU Y, et al. Knockdown of circ-ABC10 promotes sensitivity of lung cancer cells to cisplatin via miR-556-3p/AK4 axis [J]. *BMC Pulmonary Medicine*, 2020,20(1):10.